

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.  
7. Jg., S. 601—605, November 1969

## Isoenzymfraktionen der Fructose-Phosphat-Aldolase in Organen des Menschen während der embryonalen Entwicklung

*Isoenzyme der Fructose-Phosphat-Aldolase. VII. Mitteilung<sup>1)</sup>*

Von A. L. DIKOW und E. M. ZWETANOWA

*Aus den Biochemischen Abteilungen des Onkologischen Forschungsinstituts (Direktor: Prof. N. Antschew) und des Lehrstuhls für Neurologie der Medizinischen Hochschule (Leiter: Prof. S. Boshinow), Sofia, Bulgarien*

(Eingegangen am 23. Juni 1969)

Untersucht wird die Gesamtdolaseaktivität gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat, ihr Verhältnis und das Isoenzymmuster der Aldolase in verschiedenen Organen des Menschen während der embryonalen Entwicklung. Die dargestellten Isoenzymmuster der Aldolase in embryonalen Organen des Menschen zeigen, daß der Typ Aldolase A der grundlegende, in allen Organen am frühesten in der embryonalen Entwicklung hervortretende Typ ist. Im Laufe der Entwicklung erscheinen oder verschwinden in den verschiedenen Organen die Isoenzymfraktionen vom Typ C. Isoenzymfraktionen vom Typ B treten während der embryonalen Entwicklung nur in der Leber auf. Das Aktivitätsverhältnis der Aldolase gegenüber beiden Substraten und ihr Isoenzymmuster in den verschiedenen Organen sind in den frühesten Stadien sehr verschieden im Vergleich zu jenen des adulten Individuums, sie unterliegen Veränderungen während der embryonalen Entwicklung und nähern sich erst am Ende jenen des adulten Individuums.

*Isoenzyme fractions of fructose phosphate aldolase in human organs during embryonic development, Isoenzymes of fructose phosphate aldolase VII*

The total aldolase activity towards fructose-1,6-diphosphate and fructose-1-phosphate, the activity ratio for each substrate, and the isoenzyme pattern of aldolase in different organs were measured during human embryonic development. The aldolase isoenzyme patterns in human embryonic organs show that type A aldolase is the fundamental component and it is the first to appear in all organs during embryonic development. During development, the type C isoenzyme fractions appear or disappear in different organs. Type B isoenzyme fractions only appear in the liver during embryonic development. In the early stages of development, the ratio of aldolase activities towards both substrates and the aldolase isoenzyme patterns in different organs are very different from those of the adult; they change during embryonic development and do not approach the values of the adult until the end of the embryonic stage.

Beobachtungen über das Auftreten und die Differenzierung der bekannten drei Grundformen der Aldolase — Muskel A, Leber B und Gehirn C — in den Organen des Menschen und der Tiere im Laufe der embryonalen Entwicklung haben ein großes Interesse gefunden. LEUTHARDT und Mitarbeiter (1) studierten die Isoenzymmuster der Aldolase in den Organen von Rattenembryonen, SCHAPIRA (2) beobachtete sie in embryonalen Organen von Küken und Kaninchen und MASTERS (3) an Meerschweinchen, Ratte, Hamster und Kaninchen. SCHAPIRA untersuchte außerdem die Aldolaseaktivitäten gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat in Leber und Muskel am Menschenembryo (4, 5). In vorliegender Arbeit werden die Untersuchungen über die Gesamtdolaseaktivität gegenüber beiden Substraten, ihr gegenseitiges Verhältnis und die Isoenzymfraktionen der Aldolase an Menschenorganen während der embryonalen Entwicklung erörtert.

### Material und Methoden

Reagenzien waren dieselben, wie in einer vorhergehenden Arbeit mitgeteilt (6).

<sup>1)</sup> VI. Mitteilung, DIKOW, A. L., siehe diese Z. 7, 278 (1969).

Wir untersuchten Gehirn, Leber, Herz und Nieren und einen Teil der Skelettmuskulatur der Extremitäten menschlicher Embryonen des 2. bis 8. Schwangerschaftsmonats nach künstlicher Unterbrechung der Schwangerschaft. Es wurden lediglich normale, unverletzte Embryonen benützt. Die Organe wurden bei 0° homogenisiert, das Homogenat zentrifugierten wir 30 Min. bei 160000 g mit einer Beckmann-Spinko L 2-Zentrifuge bei 0°. Der klare Überstand wurde untersucht, wobei das Gesamteiweiß und die Aldolaseaktivität gegenüber beiden Substraten bestimmt wurden. Vom selben Überstand entnahmen wir 20 µl zur elektrophoretischen Trennung der Isoenzyme der Aldolase in 0,6proz. Agarosegel. Mit dem früher mitgeteilten Verfahren (6, 7) wurden die Isoenzymfraktionen dargestellt.

### Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse der Gesamt-Aldolaseaktivität gegenüber beiden Substraten sind auf Tabelle 1 dargestellt. Das Isoenzymmuster der Aldolase in den einzelnen Organen verhielt sich wie folgt:

#### *Skelettmuskel*

Zu Beginn der embryonalen Entwicklung können deutlich Isoenzyme vom Typ A und C Aldolase beobachtet werden. Im Laufe der Entwicklung verschwinden allmählich die Fraktionen vom Typ C und im Skelettmuskel des adulten Individuums verbleiben nur Fraktionen vom Typ A Aldolase (Abb. 1).

Tab. 1

Gesamtdolaseaktivität in den Organen von Menschenembryonen, dargestellt in  $\mu\text{Mol/Min}$  Fructose-1,6-diphosphat (FDP) oder Fructose-1-phosphat (FMP) pro mg Eiweiß bei 37° und ihr Verhältnis

Organe	n	FDP	FMP	Verhältnis FDP/FMP
<b>Skelettmuskel</b>				
2monat. Embryo	8	0,84	0,26	3,23
3monat. Embryo	10	1,08	0,31	3,48
4monat. Embryo	6	1,42	0,24	5,92
5monat. Embryo	2	1,88	0,26	7,23
6monat. Embryo	2	2,2	0,27	8,15
7monat. Embryo	2	2,13	0,17	12,53
8monat. Embryo	2	1,68	0,11	15,27
adult	—	3,32	0,13	25,5
<b>Leber</b>				
2monat. Embryo	8	0,63	0,04	15,75
3monat. Embryo	10	0,43	0,03	14,33
4monat. Embryo	6	0,61	0,10	6,10
5monat. Embryo	2	0,61	0,12	5,08
6monat. Embryo	2	0,45	0,16	2,81
7monat. Embryo	2	0,61	0,28	2,18
8monat. Embryo	2	0,50	0,39	1,28
adult	—	0,62	0,50	1,20
<b>Gehirn</b>				
2monat. Embryo	8	1,17	0,05	25,60
3monat. Embryo	10	1,47	0,06	23,45
4monat. Embryo	6	1,08	0,05	20,75
5monat. Embryo	2	1,20	0,06	19,24
6monat. Embryo	2	1,01	0,06	18,36
7monat. Embryo	2	1,61	0,09	17,08
8monat. Embryo	2	2,90	0,11	16,50
adult	—	4,47	0,27	16,55
<b>Herz</b>				
2monat. Embryo	8	0,53	0,12	4,42
3monat. Embryo	10	1,12	0,12	9,33
4monat. Embryo	6	1,02	0,10	10,20
5monat. Embryo	2	1,23	0,11	11,18
6monat. Embryo	2	0,90	0,07	12,86
7monat. Embryo	2	0,64	0,05	12,80
8monat. Embryo	2	0,98	0,08	12,25
adult	—	1,71	0,13	13,10
<b>Niere</b>				
2monat. Embryo	8	0,66	0,03	22,00
3monat. Embryo	10	0,55	0,03	18,33
4monat. Embryo	6	0,63	0,04	15,75
5monat. Embryo	2	0,43	0,03	14,33
6monat. Embryo	2	0,31	0,03	10,33
7monat. Embryo	2	0,20	0,02	10,33
8monat. Embryo	2	0,60	0,08	7,50
adult	2	1,04	0,48	2,90

### Leber

Unter Anwendung des Substrates Fructose-1,6-diphosphat waren im Frühstadium der embryonalen Entwicklung Isoenzymfraktionen vom Typ A und C nachweisbar. Diejenigen vom Typ A sind sehr intensiv und wegen ihrer nahen Lage fließen sie zusammen. Die vom Typ C sind weniger intensiv, jedoch deutlich dargestellt und voneinander abgesondert. Während der Embryonalentwicklung bleiben die Fraktionen vom Typ C fast unverändert und erst in der Leber des adulten Individuums verschwinden sie vollkommen.

Im dritten Monat der embryonalen Entwicklung ist das Hervortreten einer kathodischen Isoenzymfraktion vom Typ B Aldolase zu beobachten, die allmählich bis zum

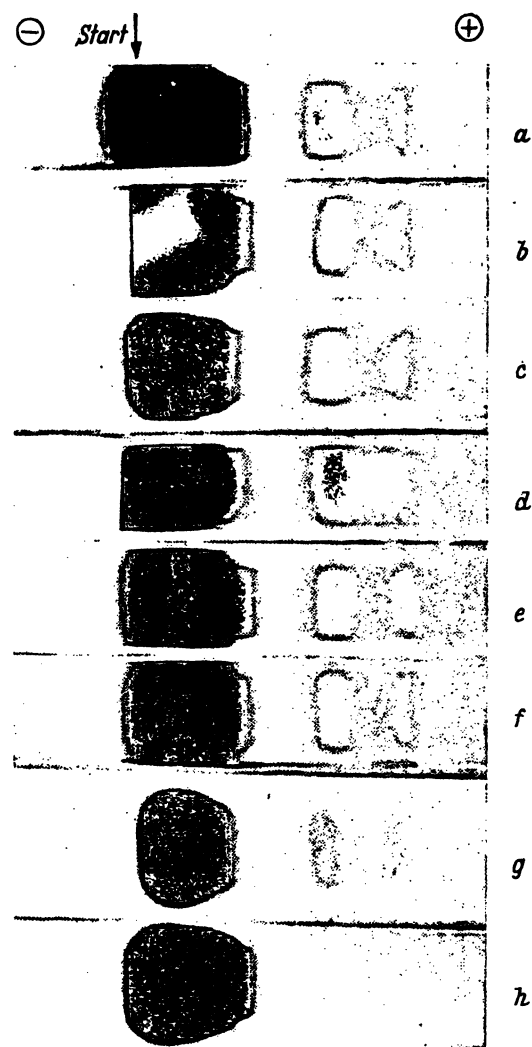


Abb. 1

Isoenzymmuster der Aldolase im Skelettmuskel des Menschen. Substrat Fructose-1,6-diphosphat  
a—g) vom 2. bis 8. Monat der embryonalen Entwicklung, h) adultes Individuum

Ende der embryonalen Entwicklung ihre Intensität erhöht. Im vierten Monat erscheint eine zweite kathodische Fraktion vom Typ B Aldolase, die sich auch später nicht verändert. Im Isoenzymmuster der Aldolase der Menschenleber fließen die zwei kathodischen Fraktionen vom Typ B wegen ihrer hohen Intensität zusammen und bilden gemeinsam eine sehr intensive Fraktion (Abb. 2).

Mit Fructose-1-phosphat als Substrat erscheinen zu Beginn der embryonalen Entwicklung im Isoenzymmuster der Leberaldolase des Menschen nur Isoenzymfraktionen vom Typ C. Später treten auch Isoenzyme vom Typ A hervor, die immer intensiver werden und beim adulten Individuum von einer Fraktion auf breitem Grund vertreten sind, während diejenigen vom Typ C verschwinden. Die kathodischen Isoenzymfraktionen vom Typ B erscheinen im dritten Monat der embryonalen Entwicklung, erhöhen allmählich ihre Intensität und sind beim adulten Individuum als eine sehr breite, intensive Fraktion dargestellt (Abb. 3).

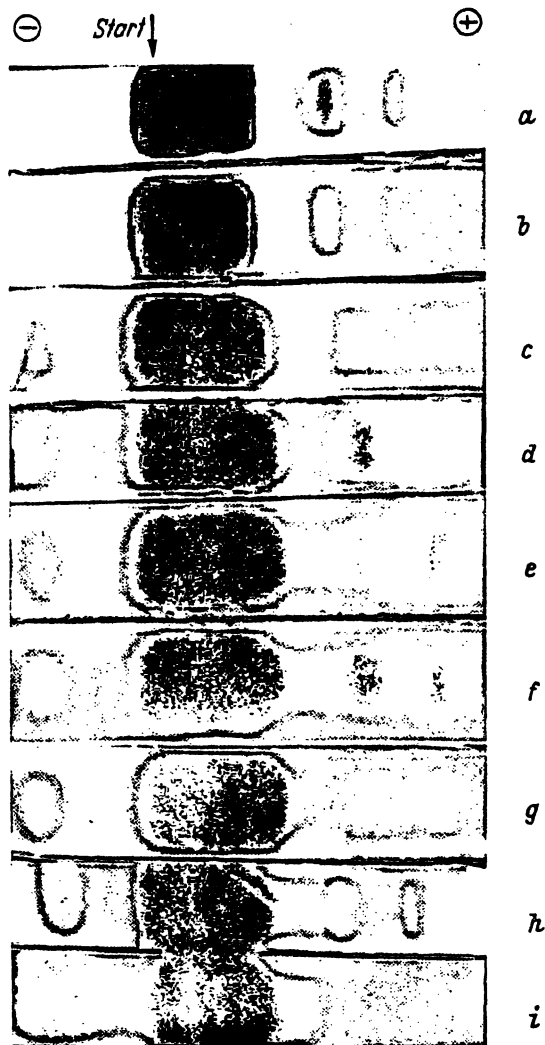


Abb. 2

Isoenzymmuster der Aldolase in der Menschenleber. Substrat Fructose-1,6-diphosphat  
a—h) vom 2. bis 8. Monat der embryonalen Entwicklung, i) adultes Individuum

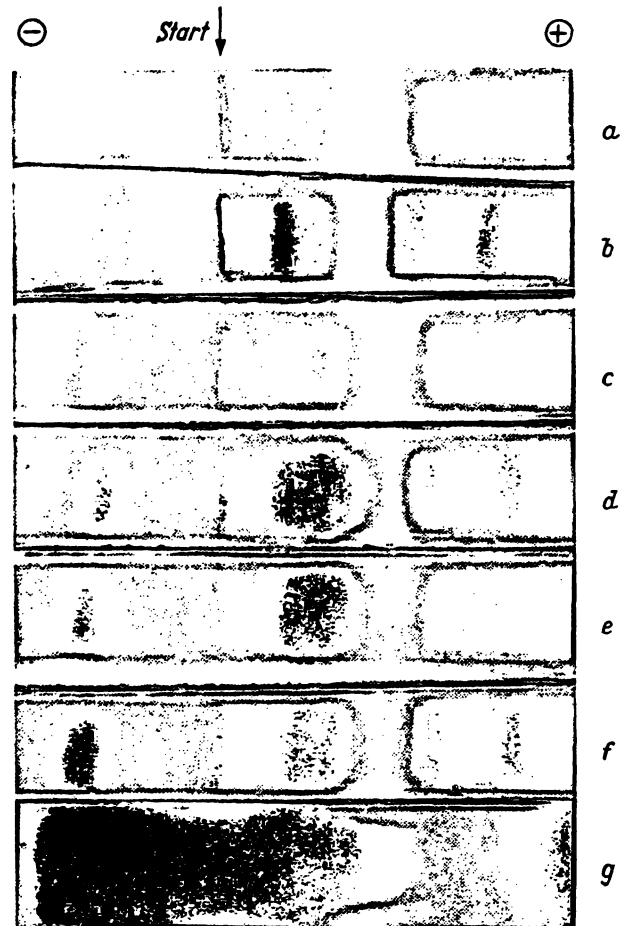


Abb. 3

Isoenzymmuster der Aldolase der Menschenleber. Substrat Fructose-1-phosphat  
a—f) vom 3. bis 8. Monat der embryonalen Entwicklung, g) adultes Individuum

### Gehirn

Im zweiten Monat beobachtet man intensive Fraktionen vom Typ A und weniger intensive, doch deutliche und voneinander abgesonderte Isoenzymfraktionen vom Typ C. Die letzteren werden allmählich intensiver, um im adulten Individuum die Fraktionen vom Typ A zu überwiegen. Bemerkenswert ist, daß die beim adulten Individuum am weitesten anodisch liegende Fraktion sehr intensiv und breit ist, sie aber bis zum fünften Embryonalmonat als zwei deutlich voneinander abgesonderten Fraktionen erscheint (Abb. 4).

### Herz

Im Isoenzymmuster der Aldolase treten im frühesten Entwicklungsstadium intensive Fraktionen vom Typ A und C hervor, bei welchen eine vom Typ C besonders intensiv ist. Im Laufe der Entwicklung nimmt allmählich die Intensität der Fraktionen vom Typ C ab und beim adulten Individuum erscheinen sie als zwei schwache Fraktionen (Abb. 5).

### Niere

Im zweiten Monat der embryonalen Entwicklung sind intensive Isoenzymfraktionen vom Typ A und zwei schwache Fraktionen vom Typ C nachzuweisen. Im Laufe der Entwicklung steigt allmählich die Intensität der Fraktionen vom Typ C. In der Niere des Embryos sind keine Isoenzymfraktionen vom Typ B nachweisbar, während beim adulten Individuum eine kathodische Isoenzymfraktion vom Typ B hervortritt (Abb. 6).

### Diskussion

Unsere Untersuchungen über die Gesamtaktivität und das Isoenzymmuster der Aldolase im Skelettmuskel während der embryonalen Entwicklung zeigen, daß das niedrige Aktivitätsverhältnis gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat sowie die deutlich dargestellten Isoenzymfraktionen vom Typ A und C kennzeichnend für die frühesten Stadien sind. Während der Entwicklung steigt dieses Verhältnis allmählich an

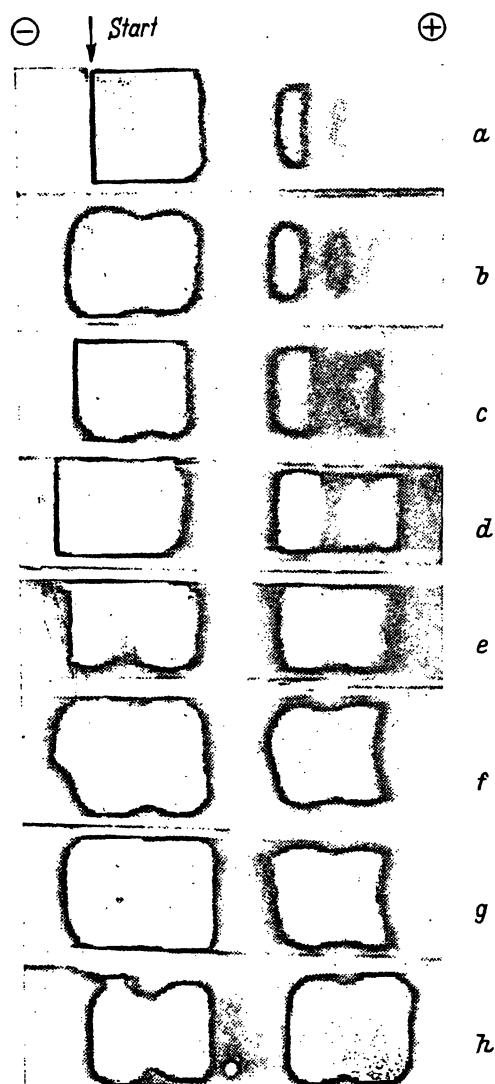


Abb. 4

Isoenzymmuster der Aldolase im Gehirn des Menschen. Substrat Fructose-1,6-diphosphat

a—g) vom 2. bis 8. Monat der embryonalen Entwicklung, h) adultes Individuum

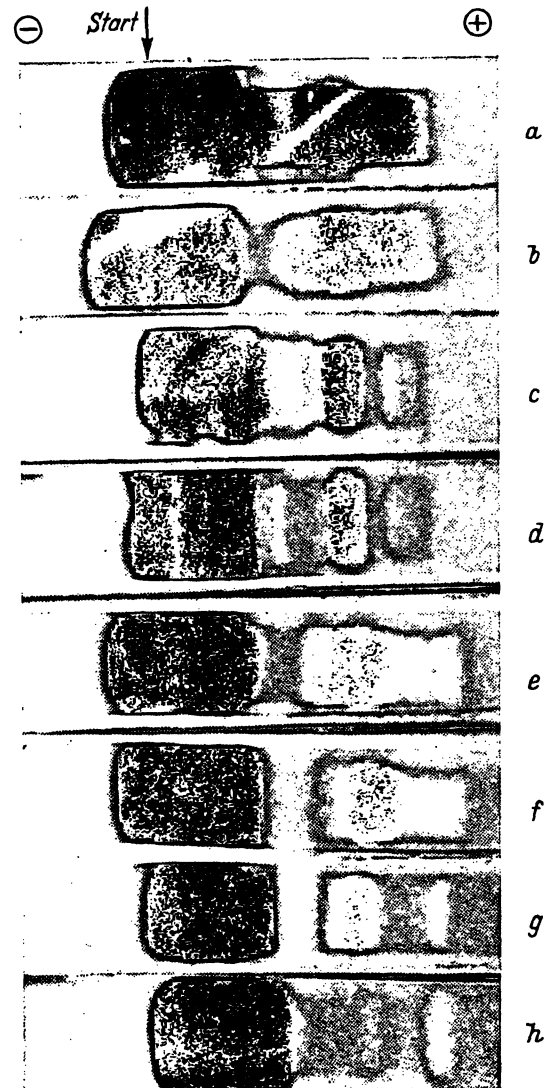


Abb. 5

Isoenzymmuster der Aldolase im Herz des Menschen. Substrat Fructose-1,6-diphosphat

a—g) vom 2. bis 8. Monat der embryonalen Entwicklung, h) adultes Individuum

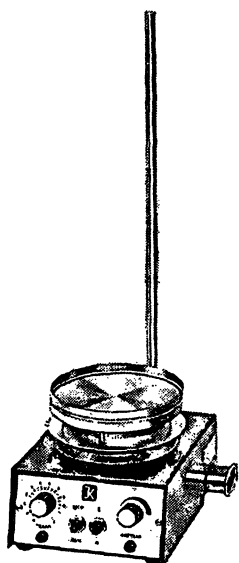
und parallel damit verschwinden die Fraktionen vom Typ C. Ähnliche Beobachtungen beschrieben SCHAPIRA (2) bei Küken und Kaninchen sowie MASTERS (3) beim Meerschweinchen, während LEUTHARDT (1) bei Ratten keine Veränderungen im Isoenzymmuster der Muskelaldolase in der embryonalen Entwicklung feststellen konnte. Bei Untersuchungen der Isoenzyme der Aldolase in Muskel von Patienten mit progressiver Muskeldystrophie, fanden wir intensive Isoenzymfraktionen vom Typ C, die jenen im Muskel vom Embryo im frühesten Entwicklungsstadium gleichen (8).

In den Frühstadien der embryonalen Entwicklung des Menschen zeigt die Leberaldolase ein hohes Aktivitätsverhältnis gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat, welches allmählich abnimmt und sich dem des erwachsenen Menschen nähert. Bei Verwendung von Fructose-1,6-diphosphat als Substrat zeigt sich ein Isoenzymmuster der Leber-Aldolase in den frühesten Entwicklungsstadien vom Typ A und C. Spä-

ter erscheinen die Fraktionen vom Typ B und die vom Typ C fallen weg. Unter Verwendung von Fructose-1-phosphat wird ein ähnliches Bild beobachtet. Bei Rattenembryonen konnte LEUTHARDT (1) nur Isoenzymfraktionen vom Typ A feststellen, und im Laufe des Entwicklungsprozesses Fraktionen vom Typ B.

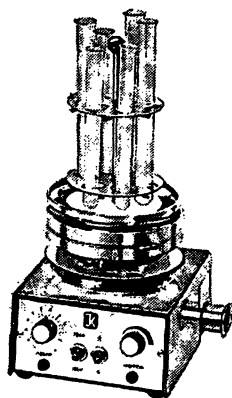
Die Gehirnalldolase zeigt zu Beginn der Entwicklung ein hohes Aktivitätsverhältnis gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat sowie intensive Fraktionen vom Typ A und schwächere vom Typ C. Im Laufe der Entwicklung nimmt dieses Verhältnis ab und die Isoenzymfraktionen vom Typ C werden intensiver, was auch von LEUTHARDT (1) an Ratten beobachtet wird.

Im Herz zeigt die Aldolase zu Beginn der Entwicklung ein niedriges Aktivitätsverhältnis gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat sowie Isoenzymfraktionen vom Typ A und C. Während der Entwicklung steigt das Verhältnis an und die Intensität



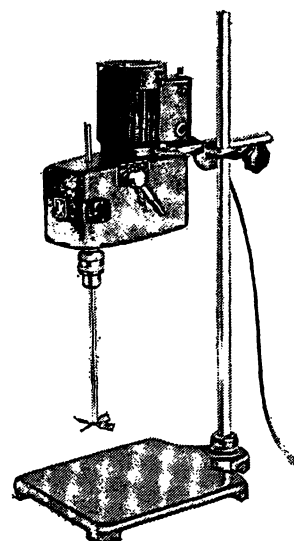
**IKA-Combimag ®,**

Magnetrührer im Baukastensystem aneinanderzureihen, magnetstark, preisgünstig, RCO, ohne Heizung, RCH (und RCHR), mit stufenloser Heizung, 2 Heizbereiche, 25—500 W., auch für Steuerung durch Kontaktthermometer.



**IKA-Schüttelaufsatz RCS,**

ein ideales Zusatzgerät für IKA-Combimag-Magnetrührer zum intensiven Schütteln kleiner Mengen bis 1 kg. Durch geeignete Halterungen können Reagenzgläser, Flaschen, Kolben und kleine Siebsätze geschüttelt werden.



**IKA-Rührmotor RM 18,**

sehr leistungsfähiger, robuster Rührmotor mit Wechselstrommotor 25 Watt, mechanischer Drehzahlregelung von 25-2000 U.p.M., Drehzahl ablesbar. Mit Überlastungsschutz. Biegsame Welle.

**JANKE & KUNKEL KG 7813 STAUFEN I. BR.**

## NEU für die Säulenchromatographie

### Aluminiumoxid W 200 - aktivitätskonstant

Ein voll standardisiertes Aluminiumoxid, das durch kein anderes zu ersetzen ist.  
Wir garantieren für alle drei Formen basisch, neutral und sauer  
Konstanz der Ausgangsaktivität  
Konstanz bei der Desaktivierung  
Konstanz bei Trennungen

Aluminiumoxid W 200 wird immer völlig gleichbleibend gefertigt. Daher lohnt es sich, alle Trennverfahren auf Aluminiumoxid W 200 umzustellen.

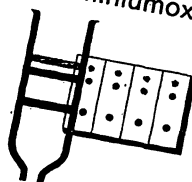
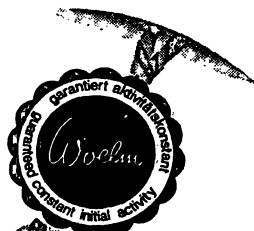
Erstmalig sind Ausgangsaktivität, Desaktivierungsverhalten und innere Oberfläche bei allen drei Formen gleich. Endlich sind Sie bei der Chromatographie vor Überraschungen sicher.

Erstaunt sein werden Sie jedoch darüber, wie wenig Sie für dieses neue Produkt bezahlen.

Aluminiumoxid W 200 basisch  
Aluminiumoxid W 200 neutral  
Aluminiumoxid W 200 sauer

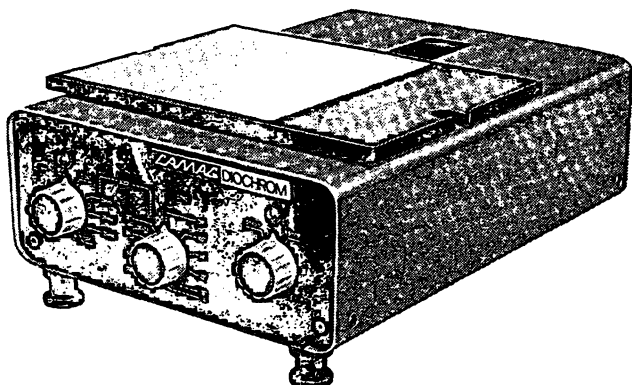
erhalten Sie bei  
**M. Woelm**  
344 Eschwege  
Postfach 840

Informationen auf Anfrage



# Direkte Kopplung von Gas-Chromatographie und Dünnschicht- Chromatographie

mit CAMAG DIOCHROM



Mit dem CAMAG DIOCHROM sammeln Sie die Fraktionen des Gas-Chromatographen auf einer DC-Platte.

Der Plattenvorschub wird so programmiert, dass die Zuordnung von DC-Fraktion und GC-Peak immer einwandfrei möglich ist.

Damit haben Sie eine zuverlässige qualitative Identifizierung ohne Veränderung des GC-Systems.

Verlangen Sie unser ausführliches Angebot.

## CAMAG

Homburgerstrasse 24  
4132 MuttENZ/Schweiz

Unser Zweigbetrieb in der  
Bundesrepublik:  
1 Berlin 45, Baseler Strasse 65

Führend in Dünnschicht-Chromatographie  
Dünnschicht-Elektrophorese  
Hochspannungs-Elektrophorese

TL 49

## HAMILTON

für Präzision  
und Qualität

Ist die Leitung oder Absperrung  
korrosiver Gase oder Flüssigkeiten  
Ihr Problem?

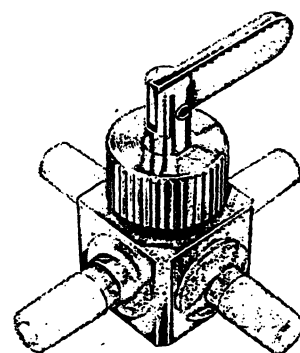
Dann empfehlen wir Ihnen die  
HAMILTON-MIKROHÄHNE "1"  
und "2x"

Korrosionsfest,

Indifferent,

Temperatur-  
beständig,

Vielseitig!



Und viele  
Verbindungen und Anschlüsse

Fragen Sie Ihren  
HAMILTON-FACHBERATER

Generalagentur für Europa:

### MICROMESURE N.V.

Postfach 205, DEN HAAG Holland

Autorisierter Händler für die BRD:

### GÜNTHER SCHMIDT

2 Hamburg 68, Postfach 680104

Bezirksvertretungen:

Aachen:	Fa. Ludwig Mohren OHG
Berlin:	Fa. K. Marggraf
Bonn:	Fa. C. Gerhardt
Bremen:	Fa. H. Jürgens & Co.
Frankfurt:	Fa. Willi Fischer & Co.
Freiburg:	Fa. Bender & Hobein GmbH
Göttingen:	Fa. Bodo Schmidt
Hannover:	Fa. H. Jürgens & Co.
Karlsruhe:	Fa. Bender & Hobein
Kiel:	Fa. Erich Eydam
München:	Fa. Bender & Hobein GmbH
Münster:	Fa. H. Jürgens & Co.

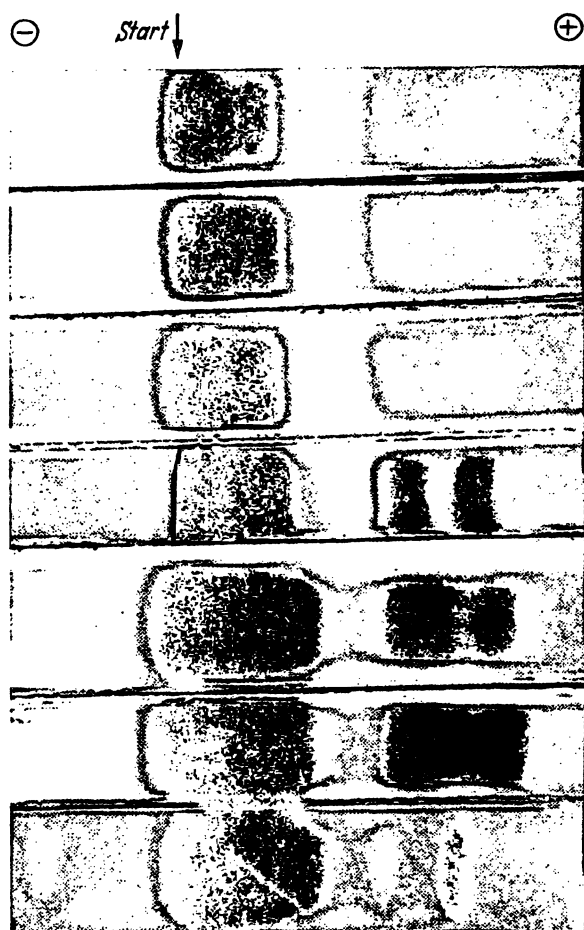


Abb. 6

Isoenzymmuster der Aldolase in der Niere des Menschen. Substrat Fructose-1,6-diphosphat  
a—f) vom 3. bis 8. Monat der embryonalen Entwicklung, g) adultes Individuum

der Isoenzymfraktionen vom Typ C ist vermindert. Bei Untersuchungen an Herzen von Rattenembryonen stellt LEUTHARDT keine Veränderungen der Isoenzymfraktionen im Vergleich zu adulten Tieren fest (1).

Die Nierenaldolase im Embryo weist ein hohes Aktivitätsverhältnis gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat auf, sowie deutlich hervortretende Fraktionen vom Typ A und schwächere vom Typ C. Während der Entwicklung vermindert sich das Verhältnis. Die Intensität der Fraktionen vom Typ C steigt an und beim adulten Individuum treten auch Fraktionen vom Typ B hervor. LEUTHARDT (1) findet in der Niere zu Beginn der Entwicklung nur Fraktionen vom Typ A und später vom Typ B.

Die dargestellten Isoenzymmuster der Aldolase in Organen des Menschenembryo zeigen, daß der Typ Aldolase A der grundlegende, in allen Organen am frühesten in der embryonalen Entwicklung hervortretende Typ ist. Während des Entwicklungsvorganges erscheinen oder verschwinden in den verschiedenen Organen die Isoenzymfraktionen vom Typ Aldolase C. Die Isoenzymfraktionen vom Typ B treten im Laufe der embryonalen Entwicklung nur in der Leber auf. Unsere Ergebnisse zeigen, daß das Aktivitätsverhältnis der Aldolase gegenüber Fructose-1,6-diphosphat und Fructose-1-phosphat und ihre Isoenzymmuster in den verschiedenen Organen und frühesten Stadien der embryonalen Entwicklung sehr verschieden im Vergleich zu denen des adulten Individuums ist. Sie unterliegen allmählichen Veränderungen im Laufe der Entwicklung und erst am Ende nähern sie sich denen des adulten Individuums.

### Literatur

1. RENSING, U., A. SCHMID und F. LEUTHARDT, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 921 (1967). — 2. SCHAPIRA, F. J., C. DREYFUS und D. ALLARD, Clin. chim. Acta, Amsterdam 20, 439 (1968). — 3. MASTERS, C. J., Biochim. biophysica Acta, Amsterdam 167, 161 (1968). — 4. SCHAPIRA, F., Europ. J. Cancer 1—2, 131 (1966).
5. SCHAPIRA, F. J., C. DREYFUS und G. SCHAPIRA, Enzymol. biol. clin., 7, 98 (1966). — 6. DIKOW, A. L., diese Z. 6, 386 (1968). — 7. DIKOW, A. L. und V. GENOWA, diese Z. 7, 155 (1969). — 8. DIKOW, A. L., I. A. TSCHANKOW und A. SAMARDJIEW, diese Z. 6, 391 (1968).

Dr. A. L. Dikow  
z. Zt. Ruhr-Universität Bochum  
Lehrstuhl für Biochemie  
463 Bochum-Querenburg  
Postfach 2148